

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker Kolon**

##### **2.1.1 Epidemiologi**

Insidensi kanker kolon di seluruh dunia tahun 2008 sebanyak 1.233.700. American Cancer Society memperkirakan pada tahun 2013 di Amerika Serikat sekitar 102,480 orang yang didiagnosa dengan kanker kolon baru dan sekitar 49,380 meninggal karena penyakit ini, baik pada laki – laki maupun wanita, kanker kolon menempati urutan ketiga yang paling sering dari kanker yang terdiagnosa dan urutan ketiga pada kanker yang menyebabkan kematian<sup>1,2</sup>. Insidensi kanker kolon lebih rendah pada negara berkembang dibandingkan dengan negara maju. Perbedaan ini sangat berhubungan dengan perbedaan diet yang dikonsumsi penduduk yaitu lemak, daging, dan serat. Di kawasan Asia tenggara insidensi kanker kolorektal menduduki peringkat ke-10.<sup>1,20,21</sup> Di Indonesia terdapat kenaikan jumlah kasus dari berbagai laporan tetapi belum ada angka yang pasti. Data yang diambil dari Departemen Kesehatan RI didapatkan angka insidensi 1,8 per 100.000 penduduk.<sup>20</sup> Kanker kolorektal menempati peringkat kedua dari seluruh kanker terbanyak pada pria setelah kanker paru, sedangkan pada wanita merupakan nomor tiga setelah kanker serviks dan payudara di kota Semarang.<sup>5</sup>

Kanker kolon banyak terjadi di wilayah benua Eropa, Amerika Utara, Australia, dan New Zealand. Sedangkan di benua Afrika, Asia, dan beberapa

Negara di benua Amerika Selatan cenderung lebih rendah. Peningkatan insidensi pada wilayah resiko rendah seperti di Jepang dan beberapa Negara Asia Timur dikarenakan kombinasi faktor perubahan pola diet, obesitas dan merokok. Kanker kolon biasanya lebih sering terjadi pada pria daripada wanita. Angka Insidensi dan kematian meningkat menurut usia. Secara keseluruhan terjadi 90% kasus baru dan 94 % kematian pada usia 50 tahun atau lebih. Angka kejadian penyakit ini 15 kali lebih tinggi pada usia 50 tahun atau lebih dibanding usia 20 sampai 49 tahun, dan berdasarkan usia lebih tinggi 35% – 40% pada laki-laki dibanding perempuan.

22,25

#### 2.1.2 Anatomi dan Histologi

Usus besar atau colon berbentuk tabung muskular berongga dengan panjang sekitar 1,5 m (5 kaki) yang terbentang dari caecum hingga canalis ani. Diameter usus besar sudah pasti lebih besar daripada usus kecil, yaitu sekitar 6,5 cm (2,5 inci), tetapi makin dekat anus diameternya semakin kecil. Dimulai dari caecum, berlanjut ke kranial sebagai kolon ascendens, fleksura hepatica, kolon transversum, fleksura lienalis, kolon descendens, kolon sigmoid, dan rektum.. Kolon berbeda dari usus kecil karena memiliki karakteristik tertentu seperti *haustra*, *taenia*, dan *apendiks epiploica*. Rektum dimulai dari promontorium turun sepanjang kurvatura sacrum dan coccyx dan berakhir setelah melewati otot levator ani, yang kemudian berlanjut sebagai canalis analis.<sup>26</sup>

Kolon dan rektum mendapat vaskularisasasi oleh a. mesenterika superior dan a. mesenterika inferior cabang dari aorta abdominalis. Pada rektum vaskularisasi mendapat anastomosis dari a. illiaca interna melalui a. rectalis media

dan inferior. Drainase vena terutama dialirkan menuju vena mesenterika superior dan inferior. Vena mesenterika inferior mengalirkan darah ke vena lienalis dan akan bergabung dengan vena mesenterika superior menjadi vena porta. Aliran limfe dimulai dari folikel dan pembuluh limfe pada bagian bawah lamina propria sepanjang muskularis mukosa, yang menjadi berlipat pada submukosa dan lapisan otot. Pembuluh ini terhubung ke limfatik ektramural kemudian menuju limfonodi epicolica, paracolica, intermediate, dan principal. Kolon dan rectum diinervasi oleh serabut parasimpatis yang berasal dari vagus dan pleksus sacralis, sedangkan serabut simpatis berasal dari medulla spinalis segmen bawah thorakalis dan segmen atas lumbalis.<sup>27</sup>

Karakteristik struktur traktus digestivus secara umum yaitu berupa tabung berongga dengan ukuran lumen bervariasi. Dinding yang terdiri dari empat lapisan yaitu mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa. Mukosa terdiri dari lapisan epitel dengan dasar berupa lamina propria yang terdiri dari jaringan ikat longgar yang kaya akan pembuluh darah, limfe, dan sel otot polos. Pada submukosa terdapat pembuluh darah dan limfe, serta anyaman saraf autonom. Lapisan muskularis terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan otot sirkular dan lapisan otot longitudinal. Diantara kedua lapisan otot tersebut terdapat pula anyaman saraf myenterikus, yang bersama dengan anyaman saraf submukosa membentuk system saraf enterik lokal. Lapisan serosa merupakan jaringan ikat longgar yang kaya struktur pembuluh darah, limfe dan jaringan lemak, dilapisi oleh mesotelium. Lapisan serosa ini berlanjut menjadi mesokolon sebagai penggantung organ intraperitoneal.<sup>28</sup>

Mukosa usus besar tidak memiliki vili maupun plika kecuali pada bagian rektum. Lekukan mukosa dapat masuk sampai muara kelenjar tubular intestinal yang berdampingan dengan sel goblet, sel absorpsi, dan sejumlah kecil sel enteroendokrin. Sel kelenjar tubular intestinal ini dapat berkembang menjadi sel ganas sebagai adenokarsinoma sekitar 90-95%. Sel absorpsi atau kolonosit memiliki bentuk kolumnar dan mikrovili yang pendek dan irregular. Lamina propria kaya akan sel limfoid dan nodul limfoid yang sering penetrasi ke submukosa.<sup>28</sup>

### 2.1.3 Etiologi dan Patogenesis

Karsinogenesis kolon merupakan proses kompleks dan bertahap dimana berbagai macam perubahan mempengaruhi transformasi sel normal menjadi sel ganas. Beberapa kategori gen yang terlibat yang secara normal teregulasi yang berperan dalam menjaga keseimbangan antara pertumbuhan sel, kematian sel, replikasi DNA, dan mekanisme *repair*. Gangguan keseimbangan antara onkogen yang memacu proliferasi sel dan *tumor suppressor gen* yang menghambat pertumbuhan berlebihan menghasilkan ekspansi sel ganas.

Mutasi DNA dapat terjadi baik secara mutasi somatik yang terjadi saat sel tumbuh dan berkembang, dalam menjaga keseimbangan jaringan, atau mutasi *germ-line* yang ditransmisikan secara herediter. Pada sel yang berfungsi secara normal, dapat memiliki kecenderungan mutasi genetik spontan yang dapat dideteksi kerusakannya oleh sel tersebut dan melakukan mekanisme *repair* yang efektif. Akan tetapi, bila kerusakan sel terlalu berat akan terjadi mekanisme

apoptosis. Ketika sel gagal mengenali kerusakan DNA dan gagal memperbaikinya, akan terjadi akumulasi produk gen yang cacat, bahkan akan memicu respon proliferasi. Jika hasil replikasi tersebut meningkatkan potensi pertumbuhan sel normal sekitarnya akan menyebabkan keadaan instabilitas genetik dan memicu berkembangnya sel ganas.<sup>29</sup>

Terdapat 2 tipe instabilitas genetik : <sup>29,30</sup>

#### 1. Instabilitas Kromosom (CIN)

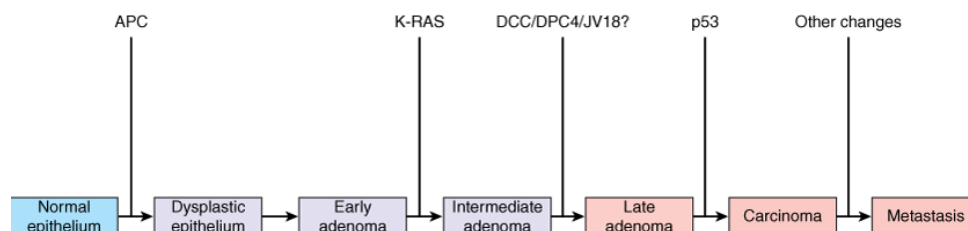
Pada keadaan ini terjadi hilangnya kromosom akibat pembelahan kromosom yang tidak simetris saat mitosis sehingga salah satu sel yang terbentuk tidak menerima salinan kromosom. Keadaan ini disebut *loss of Heterozygosity* (LOH) dan berhubungan dengan prognosis buruk.

#### 2. *Microsatellite Instability* (MSI)

Terjadinya kesalahan replikasi pada tingkat DNA yang menyebabkan penambahan untaian DNA. Keadaan ini dapat ditemukan pada *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer* (HNPCCs)

Selama proses pembelahan sel, DNA diduplikasi dimana DNA asli berperan menyediakan pola untuk salinan replikasi. *DNA polymerase* berperan sebagai “*proofreader*” yang dapat mengenali bila terjadi kesalahan duplikasi, menunda sintesis DNA, membuang sekuens yang rusak dan mengulang sintesis DNA. Kegagalan peran ini menyebabkan berkembangnya mutasi sel yang terbentuk. Enzim yang mengawasi DNA baru yang terbentuk dan mengoreksi kesalahan replikasi dinamakan *DNA mismatch repair* (MMR) *system*.<sup>29</sup>

Model genetik tumorigenesis kolorektal ini pertama kali diperkenalkan oleh Vogelstein dkk pada tahun 1988 yang dikenal sebagai *adenoma-carcinoma sequens*. Model ini menggambarkan karsinogenesis sebagai akumulasi kejadian genetik, pertumbuhan dan proliferasi sel yang tidak terkendali. Mutasi gen dan hilangnya gen/kromosom yang diamati pada kanker kolon sporadik meliputi gen APC (adenoma-poliposis coli), gen MMC (mutasi pada kanker kolon), *K-ras*, DCC (*Deleted in Colon Cancer*), dan gen p53. Mutasi gen APC yang berperan dalam mengontrol adhesi antar sel dan komunikasi interseluler ditemukan sebanyak 60%, dan merupakan kejadian pertama kali dalam karsinogenesis. Mutasi *K-ras* yang secara normal berfungsi sebagai transduksi sinyal intraseluler dan stimulasi pembelahan sel, terjadi pada adenoma dan karsinoma yang lebih besar dan juga menstimulasi pertumbuhan sel. Penghapusan gen tumor supressor DCC menyebabkan progresi dari polip jinak menjadi ganas. Mutasi gen p53, dimana merupakan gen yang paling banyak terjadi mutasi pada kanker manusia, juga terjadi pada kanker kolon invasif, yang menunjukkan bahwa mutasi gen p53 terjadi pada akhir perkembangan fenotip invasif..<sup>29,30</sup>



Gambar 1 skema kejadian morfologik dan molekuler tumorigenesis kolorektal  
Sumber: Schwartz's principles of surgery, 9th ed, 2010

#### 1.1.4 Klasifikasi

Adenokarsinoma yang berasal dari kelenjar yang mensekresikan musin merupakan 96 % dari kanker kolorektal dan kebanyakan dari jenis ini merupakan perkembangan dari polip adenomatous kolon. Kejadian tersebut disebabkan tumor sel mewakili kombinasi sel kolumnar dan sel goblet, kadang disertai dengan sel neuroendokrin. Permukaan tumor dapat memiliki konfigurasi papiller maupun villous. Tumor dapat terlihat menginvasi seluruh lapisan dinding kolon dan meluas sampai lemak pericolica, spatium perineural, dan menginvasi vena. Residual polip dan fokus polip dapat terlihat pada tepi tumor, dimana hal tersebut paling banyak terdapat pada lokasi perubahan hiperplastik kelenjar, dengan bentuk lebih tinggi, lebih berlekuk, dan lebih banyak sel goblet dibanding mukosa normal.<sup>31</sup>

Klasifikasi histopatologis berdasarkan WHO : <sup>32</sup>

1. Adenokarsinoma musinous
2. Karsinoma sel signet ring
3. Karsinoma *small cell*
4. Karsinoma *medullary*
5. Karsinoma anaplastik / *undifferentiated*
6. Karsinoma adenoskuamosa / skuamosa

Berdasarkan gambaran gejala klinik, klasifikasi stadium ditentukan dengan sistem TNM : <sup>32,33,34</sup>

**T = Tumor Primer**

Tx = Tumor primer tak dapat diperiksa

T0 = Tidak terdapat tumor primer

Tis = Karsinoma in situ; intraepithelial atau invasi lamina propria

- T1 = Tumor menginvasi submukosa  
 T2 = Tumor menginvasi muskularis propria  
 T3 = Tumor menginvasi seluruh muskularis propria sampai subserosa, atau jaringan perikolika atau perirektal nonperitoneal  
 T4a = Tumor menembus permukaan peritoneum visceral  
 T4b = Tumor menginvasi atau menempel pada organ atau struktur lain

**N = Limfonodi Regional**

- Nx = Limfonodi Regional tak dapat diperiksa  
 N0 = Tak ada metastasis di Limfonodi Regional  
 N1 = Metastasis pada 1-3 limfonodi regional  
 N1a = Metastasis pada 1 limfonodi regional  
 N1b = Metastasis pada 2-3 limfonodi regional  
 N1c = Tumor deposit pada subserosa, mesenterium, atau jaringan perikolika nonperitoneal, atau jaringan perirektal tanpa metastasis limfonodi regional  
 N2 = Metastasis pada 4 atau lebih limfonodi regional  
 N2a = Metastasis pada 4-6 limfonodi regional  
 N2b = Metastasis pada tujuh atau lebih limfonodi regional

**M = Metastasis jauh**

- M0 = Tak ada metastasis jauh  
 M1 = Metastasis Jauh  
 M1a = Metastasis meliputi organ tunggal  
 M1b = Metastasis meliputi lebih dari satu organ atau peritoneum

**R = Residual Tumor**

- R0 = Reseksi komplrit, margin negatif secara histologi, tidak ada residu tumor setelah reseksi  
 R1 = Reseksi inkomplrit, margin terlibat secara histologi, tumor tertinggal secara mikroskopis setelah reseksi  
 R2 = Reseksi inkomplrit, margin terlibat atau tumor tertinggal secara makroskopis setelah reseksi

**Stadium Kanker Kolon :**

Stadium 0	=	Tis	N0	M0
Stadium I	=	T1	N0	M0
		T2	N0	M0
Stadium IIA	=	T3	N0	M0
Stadium IIB	=	T4a	N0	M0
Stadium IIC	=	T4b	N0	M0
Stadium IIIA	=	T1-T2	N1/N1c	M0
		T1	N2a	M0
Stadium IIIB	=	T3-T4a	N1/N1c	M0



		T2-T3	N2a	M0
		T1-T2	N2b	M0
Stadium IIIC	=	T4a	N2a	M0
		T3-T4a	N2b	M0
		T4b	N1-N2	M0
Stadium IVA	=	Setiap T	Setiap N	M1a
Stadium IVB	=	Setiap T	Setiap N	M1b

#### 1.1.5 Penatalaksanaan

Pembedahan tetap merupakan pilihan utama pada penatalaksanaan kanker kolorektal yang terlokalisir. Pada *karsinoma insitu*, membuang tumor dengan polipektomi atau eksisi lokal melalui kolonoskopi. Reseksi segmen colon mungkin dapat diperlukan bila tumor cukup besar untuk di eksisi. Pada stadium lokal reseksi tumor sepanjang kolon tempat lokasi tumor beserta limfonodus di sekitarnya. Pada stadium regional selain operasi biasanya di ikuti dengan kemoterapi yaitu fluorouracil (5FU) sudah terbukti dapat meningkatkan angka survival pada pasien kanker kolon stadium II dan III, dengan menurunkan angka rekurensi.<sup>35,36</sup> Radioterapi mungkin perlu dipertimbangkan bila tumor tumbuh di jaringan yang ada di dekatnya. Pada stadium kanker yang sudah besmetastasis jauh (hati, paru, peritoneum, ovarium) tujuan operasi (reseksi segmental atau kolostomi) hanya dilakukan untuk mencegah obstruksi kolon, tidak direkomendasikan pada semua pasien. Kemoterapi, radoterapi dan target terapi dapat diberikan secara sendiri atau kombinasi untuk mengurangi gejala dan memperpanjang survival. Pembedahan pada kanker kolon dilakukan seradikal mungkin dengan pertimbangan preservasi organ sekitar, sedangkan pada tumor

rectum, penggunaan teknik *total mesorectal excision* (TME) dapat mengurangi rekurensi lokal dan memperbaiki angka *survival*.<sup>1,35,36</sup>

5FU telah terbukti dapat meningkatkan angka respon sebesar 20%, sejak diperkenalkan tahun 1957. Penelitian meta-analisis skala besar percobaan klinis fase III membandingkan pembedahan saja dengan penambahan kemoterapi *adjuvant* 5FU meningkatkan angka *survival* sebesar 2,3-5,7%. Perkembangan selanjutnya kemoterapi ini diberikan kombinasi leucovorin yang dapat memodulasi aktivitas 5FU dan menurunkan toksisitasnya.<sup>36</sup>

Kanker kolon stadium III sebaiknya diberikan *adjuvant* kemoterapi terutama pada bentuk resiko tinggi. Terdapat bukti pada penelitian sebelumnya bahwa pada pasien dengan stadium II nodus negatif memberi keuntungan yang sama dibanding pasien stadium III nodus positif dalam hal pemberian kemoterapi *adjuvant*. Sejumlah percobaan klinis acak prospektif membuktikan keuntungan pemberian kemoterapi untuk kanker kolon stadium III resektabel. *Guidelines* saat ini merekomendasikan pemberian kemoterapi 5FU–Leucovorin dan regimen basis oxaliplatin sebagai standar terapi *adjuvant*.<sup>37</sup>

#### 1.1.6 Prognosis

Klasifikasi Dukes paling banyak dipakai, akan tetapi klasifikasi TNM memberi gambaran patologis yang lebih mendetail. *Surveillans* pasien kanker kolon berusia lebih dari 50 tahun meningkat dalam 25 tahun terakhir dikarenakan tes skrining seperti pemeriksaan *fecal occult blood* periodik, sigmoidoskopi, dan kolonoskopi dan *follow up* lebih teratur. Meningkatnya pengetahuan tentang

genetika kanker kolon menambah pemeriksaan yang lebih tepat dan sangat membantu mendeteksi kanker kolon lebih dini di masa depan. Tabel di bawah membandingkan angka *5-year survival rates* antara klasifikasi Dukes dengan sistem TNM.<sup>38,39</sup>

Tabel 1 Perbandingan *5-year survival rates* antara klasifikasi *Dukes*, *staging* dan sistem TNM

<b>TABLE 8.15. Staging of Colorectal Cancer and Survival Rates According to Dukes' Classification and TNM Stage</b>			
<i>Dukes' Classification</i>	<i>Stage</i>	<i>TNM Classification</i>	<i>5-Year Survival</i>
A	I	T1 or T2, N0, M0	90%
B	II	T3 or T4, N0, M0	60%–80%
C	III	Any T, N1, N2, or N3, M0	20%–50%
D	IV	Any T, Any N, M1	5%

Sumber: Schwartz's principles of surgery.9th ed, 2010

Prognosis lebih ditentukan oleh :<sup>38</sup>

1. Diferensiasi histologi yang rendah dan adanya invasi vaskular dan perineural.
2. Adanya obstruksi atau perforasi
3. Sel tumor aneuploid
4. Tumor sel signet (musin intrasitoplasmik) dan tumor *mucin-producing*.
5. Meningkatnya kadar CEA

Bukti menunjukkan bahwa pada pengecatan sederhana potongan tumor pada pasien dengan kanker kolon, adanya infiltrasi limfosit dalam tumor berhubungan dengan peningkatan *survival*. Dengan adanya teknik pengecatan imunohistokimia semakin membuktikan bahwa peningkatan infiltrasi limfosit T

CD4+ dan CD8+ berhubungan dengan peningkatan *survival* pasien dengan kanker kolon.<sup>39,40</sup>

## **2.2. Respon sistem imunitas terhadap sel tumor**

Timbulnya kanker merupakan proses dari proliferasi yang tak terkontrol serta penyebaran sel-sel yang mengalami transformasi. Pertumbuhan tumor ganas sangat dipengaruhi oleh kapasitas proliferasi sel tumor dan oleh kemampuan sel-sel tersebut melakukan invasi pada host dan bermetastasis jauh..<sup>42</sup> Tubuh memiliki mekanisme *immune surveillance* dalam melawan sel kanker. Konsep *immune surveillance*, oleh Macfarlane Burnet di tahun 1950, menyatakan bahwa fungsi fisiologis dari sistem imun adalah mengenal dan merusak sel-sel yang mengalami transformasi sebelum dapat tumbuh menjadi tumor ataupun membunuhnya jika telah terbentuk tumor.<sup>42,44</sup>

*Immune surveillance* pada sel kanker, menggambarkan bahwa imunitas humoral lebih sedikit berperan dibanding imunitas seluler yang memiliki peran utama dalam proses penghancuran sel kanker, terutama oleh limfosit T. sedangkan imunitas humoral, melalui limfosit B yang memproduksi antibodi terhadap antigen tumor.<sup>44-47</sup>

### **2.2.1. Antigen Tumor dan Pengenalan Sistem Imunitas**

Sel tumor yang mengekspresikan satu atau lebih antigen maka imunogenitas akan terjadi. Antigen tersebut merupakan *tumor-specific antigene* yang hanya diekspresikan oleh sel tumor namun tidak diekspresikan oleh sel normal. Namun bisa juga sel normal mengekspresikan antigen tumor yang disebut *tumor-associated antigene*, di mana antigen ini merupakan kandungan

normal sel namun diekspresikan secara aberan atau terjadi disregulasi pada tumor.<sup>42,44</sup> Penghancuran tumor oleh sistem imun memerlukan proses pengenalan antigen spesifik dari tumor tersebut sebagai *non self*, baru kemudian dihancurkan melalui mekanisme imunseluler ataupun humoral.

Terdapat perbedaan yang mendasar antara sistem imun humoral dan seluler dalam mekanisme pengenalan antigen. Limfosit B dapat mengenali antigen yang tidak dipresentasikan dalam konteks suatu molekul lain dan kemudian menggunakan molekul immunoglobulin (Ig) untuk bereaksi secara spesifik dengan antigen. Dengan kata lain limfosit B dapat mengenali antigen dalam bentuk aslinya. Sementara limfosit T mengenali antigen dalam bentuk yang telah diproses oleh *antigen presenting cell* (APC). Tumor dapat bertindak sebagai APC yang mempresentasikan antigennya sendiri, atau melalui sel lain (APC profesional), terutama sel dendritik, yang meng-ingesti antigen tumor. Melalui APC antigen akan mengalami denaturasi, dipecah dalam sel, dan ditranspor ke dalam kompartemen subseluler spesifik, kemudian dipresentasikan sebagai suatu glikoprotein permukaan sel yang ter-encode dalam suatu kelompok gen yang disebut *major histocompatibility complex* (MHC). Setelah suatu kompleks antigen dan MHC terlengkapi pada permukaan sel, akan bisa dikenali oleh limfosit T melalui T-cell receptor (TCR) pada permukaan selnya.

Sel limfosit T-CD8<sup>+</sup> akan mengenali Antigen yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I. Sedangkan yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas II akan dikenal oleh sel limfosit T-CD4<sup>+</sup>. Selain itu APC juga mengekspresi

costimulator yang dapat menunjang sinyal yang diperlukan untuk proses diferensiasi sel T  $CD8^+$  menjadi sel limfosit T sitotoksik.<sup>42,44-47</sup>

### 2.2.2. Peran Sistem Imunitas Seluler

Efektor yang berperan dalam sistem imun seluler, adalah sel limfosit T sitotoksik, sel natural killer (NK), dan makrofag. Sel T sitotoksik dan sel NK melalui limfokin yang dilepaskannya, berperan sebagai efektor sekaligus regulator dalam respon imun karena kemampuannya dalam mempengaruhi aktivitas sel *imunokompeten*.<sup>42,44-46</sup>

#### 2.2.2.1. Respon Imunitas melalui Limfosit T

Dua subpopulasi limfosit T, yaitu limfosit *T-helper* ( $CD4^+$ ) dan T-sitotoksik ( $CD8^+$ ), yang berperan dalam proses eliminasi sel tumor. Efek utama sistem imunitas seluler terhadap tumor adalah sel limfosit T-sitotoksik. Sel limfosit T-sitotoksik akan menjalankan fungsi *surveillance* dengan mengenal dan membunuh sel-sel yang potensial maligna yang mengekspresi peptida yang diturunkan dari protein seluler mutan atau protein virus yang onkogenik, yang dipresentasikan oleh APC melalui molekul MHC kelas I. Kemudian antigen yang dipresentasikan tersebut membentuk kompleks dengan *T-cell receptor* (TCR) dari sel T-sitotoksik. Hal ini mengaktifkan sel T-sitotoksik yang selanjutnya akan menghancurkan sel tumor tersebut.

Sel tumor juga mengekspresikan sebagian kecil antigen tumor bersama molekul MHC kelas II, sehingga dapat dikenali dan membentuk kompleks dengan limfosit *T-helper*. Kemudian terjadi aktivasi sel *T-helper* terutama *subset* Th1. Sel

T-*helper* tidak bersifat sitotoksik langsung bagi tumor, berperan dalam respon antitumor dengan memproduksi berbagai *sitokin* yang diperlukan untuk perkembangan sel T-sitotoksik menjadi sel efektor yang spesifik terhadap tumor. Sel T-*helper* yang diaktifasi oleh antigen tumor juga dapat mensekresi tumor necrosis factor (TNF) dan interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), yang keduanya akan meningkatkan ekspresi dan sensitivitas MHC kelas I terhadap sel tumor untuk dapat dilisiskan oleh sel T-sitotoksik. Selain itu IFN- $\gamma$  akan mengaktifasi makrofag untuk memfagositosis sel tumor.<sup>42,44-47</sup>

Ada 2 cara bagi sel T-sitotoksik mengeliminasi sel tumor. Yang pertama dengan cara memproduksi *perforin* dan *granzyme* yang bersama-sama akan menyebabkan apoptosis dari sel target. Jalur yang kedua dengan melakukan ikatan pada *target-cell death receptors* sel target, seperti FAS (CD95), yang kemudian akan menginduksi sel target sehingga terjadi apoptosis. Setelah mengenal sel tumor, sel T-sitotoksik akan melepas granula azurofilik. Granula ini akan menyelubungi sel target, kemudian akan bersatu dengan membrane sel target (*eksositosis*). Granula tersebut mengandung *perforin*, *sitotoksin*, *serine esterase* (*granzyme*) dan *proteoglikan*. Perforin akan membuat “lubang” pada membran sel target (sel tumor) yang akan menjadi pintu masuk bagi molekul sitotoksik lainnya ke dalam sitoplasma dan inti sel target yang kemudian menyebabkan sel target mengalami lisis.<sup>42,48-50</sup>

#### 2.2.2.2. Respon Imunitas melalui Sel *Natural Killer* (NK)

Berbeda dengan limfosit T, Sel NK melakukan sitotoksitas terhadap sel tumor tanpa melalui ekspresi antigen tumor dengan molekul MHC kelas I. Sel NK

memiliki 2 tipe reseptor, yaitu reseptor pengaktifasi dan *killer inhibitor receptor* (KIR) yang menghambat sitolisis oleh sel NK melalui pengenalan terhadap molekul MHC kelas I. Sel NK tidak melisiskan sel berinti yang sehat karena sel tersebut mengekspresikan MHC kelas I. Jika infeksi virus dan atau perubahan neoplastik mengurangi ekspresi MHC kelas I yang normal, sinyal KIR akan terganggu sehingga sel NK akan melisiskan sel target tersebut.<sup>41,42</sup> Jadi sel NK justru akan melisiskan sel tumor yang tidak mengekspresikan MHC, yang biasanya terhindar dari lisis oleh sel T-sitotoksik. Sel NK dapat diaktifkan secara langsung melalui pengenalan antigen tumor atau sebagai akibat aktifitas sitokin yang diproduksi oleh limfosit T.<sup>43</sup> Aktifitas sel NK dihambat oleh antigen HLA-G, sehingga sel tumor yang mengekspresikan antigen HLA-G akan terhindar dari lisis oleh sel NK. Meskipun tumor terhindar dari lisis oleh sel T-sitotoksik dengan tidak mengekspresikan antigen MHC, namun sulit bagi tumor untuk terhindar dari lisis oleh sel NK, jika tumor tersebut tidak mengekspresikan antigen HLA-G.<sup>42,44,47</sup>

Sel NK memiliki Mekanisme efektor mirip dengan sel T-sitotoksik ( $CD8^+$ ), yaitu membunuh sel kanker dengan mengeluarkan *perforin* dan *granzyme* yang bersama-sama akan menyebabkan apoptosis dari sel target, mengeluarkan  $IFN\ \gamma$  yang meningkatkan kerja fagositosis makrofag, melakukan ikatan pada *target-cell death receptor*, seperti FAS (CD95) ataupun FAS Ligan pada sel kanker yang telah diopsonisasi sehingga sel kanker diprogram apoptosis.<sup>42,44,48,50</sup> Sel NK mempunyai reseptor untuk bagian tetap (Fc $\gamma$  RIII atau CD 16) dari Ig G yang memberinya fungsi sitotoksik tergantung antibodi (*antibody dependent*



*cellular cytotoxicity* / ADCC). Sehingga sel target akan dikenali dan dilisiskan oleh sel NK bila sudah diopsonisasi oleh Ig G.<sup>42,44</sup>

Beberapa sitokin, meliputi IFN, TNF, IL-2 dan IL-12 dapat meningkatkan kemampuan sel NK membunuh sel tumor, sehingga kinerja sel NK dalam aktifitas anti tumor dipengaruhi oleh stimulasi yang terjadi secara bersamaan pada limfosit T dan makrofag yang memproduksi sitokin tersebut. Ketiga jenis IFN ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) dapat meningkatkan fungsi sel NK. IFN mengubah pre-NK menjadi sel NK yang mampu mempermudah interaksi dengan antigen tumor dan lisis sel sasaran. Sel NK mungkin berperan dalam *immunosurveillance* terhadap tumor yang sedang tumbuh, khususnya tumor yang mengekspresikan antigen virus. Dilaporkan terjadi peningkatan insidensi EBV-associated lymphoma pada beberapa pasien yang mengalami defisiensi sel NK.<sup>42,44,47</sup>

Sel NK dapat diaktifkan dengan stimulasi IL-2, yang disebut *lymphokine activated killer cells* (LAK cells) dalam membunuh sel tumor. Sel-sel ini bisa didapatkan secara *invitro* dengan memberikan IL-2 dosis tinggi pada biakan sel-sel limfosit darah perifer atau sel-sel *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TIL) yang berasal dari penderita kanker. Sel-sel yang diaktifkan oleh limfokin (LAK cells) menunjukkan peningkatan aktivitas sitotoksik yang nyata.<sup>44,47</sup> Selain itu sel NK memiliki peran penting dalam mencegah metastasis dengan mengeliminasi sel tumor dalam sirkulasi. Hal ini ditunjukkan dari suatu penelitian bahwa 90%-99% sel tumor yang diberikan ke resipien secara intravena akan hilang dalam 24 jam, dan hal ini mempunyai hubungan bermakna dengan jumlah dan aktivitas sel NK.<sup>53</sup>

### 2.2.2.3. Respon Imunitas melalui Makrofag

Peran Makrofag dalam melisiskan sel tumor bisa dengan berperan sebagai APC yang mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel *T-helper*, ataupun berfungsi sebagai efektor. Makrofag memerlukan aktivasi untuk dapat melisiskan sel tumor. Mekanisme aktivasi makrofag oleh tumor masih belum jelas, kemungkinan meliputi pengenalan langsung antigen permukaan sel dari sel tumor dan aktivasi oleh IFN- $\gamma$  yang diproduksi oleh *tumor-specific T-cell*. Proses lisis sel tumor dilakukan dengan menggunakan enzim lisosomal, oksigen reaktif, dan nitric oxide. Makrofag juga memiliki reseptor Fc dari Ig G, sehingga dapat bekerja sama dengan Ig G dalam melisiskan sel tumor. Makrofag aktif juga mensekresi sitokin antara lain IL-12 dan *tumor necrosis factor* (TNF). IL-12 berperan memacu proliferasi dan aktivasi sel T-CD4<sup>+</sup>, sel T-CD8<sup>+</sup> serta sel NK, sedangkan TNF berperan dengan menginduksi trombosis dalam pembuluh darah tumor sehingga akan membunuh tumor.<sup>1,42,44,47-49</sup> Dalam Respon imun melawan sel tumor akan menghasilkan debris-debris sisa penghancuran sel, makrofag dibantu oleh opsonisasi komplemen dan antibodi berperan membersihkan debris - debris tersebut.<sup>42,44</sup>

TNF- $\alpha$  merupakan nonglycosylated transmembran protein dengan berat molekul 25 kD, dalam sirkulasi dalam bentuk homotrimer stabil dengan berat molekul 51 kD. Dalam kinerjanya sebagai antitumor dikaitkan dengan induksi apoptosis sel tumor melalui reseptor TNF pada permukaan sel tumor. Dengan proses apoptosis, sel ini akan mengekspresikan MHC kelas I, yang dapat dikenali dan dilisis oleh CTL dan sel- NK. TNF juga akan mengakibatkan Schwartzman reaction lokal, yang akan menimbulkan kerusakan *vascular bed* tumor

### 2.2.3. Peran Sistem Imunitas Humoral

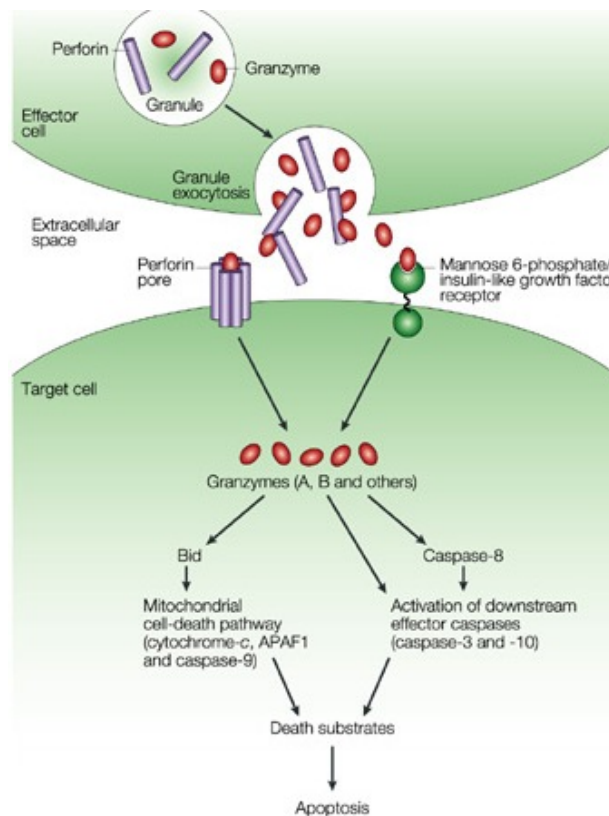
Kemampuan antibodi mengeliminasi sel kanker lebih banyak ditunjukkan secara *in vitro*, dan hanya terdapat sedikit bukti tentang efektifitas imunitas humoral melawan kanker. Antibodi dapat membunuh sel tumor dengan mengaktifkan komplemen atau melalui *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity* (ADCC), di mana *Fc receptor-bearing macrophage* atau sel NK memperantarai pembunuhan tersebut. Belum didapatkan bukti bahwa antibodi secara sendiri mampu menghambat perkembangan / pertumbuhan sel kanker. Dengan kata lain respon imun humoral terhadap kanker selalu memerlukan bantuan efektor imun seluler. Antibodi yang membentuk kompleks imun diduga lebih berperan dalam imunitas terhadap sel tumor yang bebas (leukemia, metastase tumor) dibanding terhadap tumor padat.<sup>42,44,45,47</sup>

### 2.2.4. Granzyme

Sel T-sitotoksik dan sel NK merupakan efektor yang berfungsi untuk melawan infeksi virus, bakteri tertentu, dan sel kanker. Keduanya mengeliminasi sel kanker dengan memproduksi *perforin* dan *granzyme* yang bersama-sama akan menyebabkan apoptosis dari sel tumor.<sup>48-50,51</sup>

*Perforin* dan *granzyme* memiliki peran yang sangat vital Dalam mekanisme pembunuhan terhadap sel yang terinfeksi atau sel kanker, di mana mekanisme tersebut merupakan satu bagian dari respon imunologis. *Perforin* adalah suatu protein sitolitik yang terdapat dalam granula-granula sel T-sitotoksik dan sel NK. *Perforin* akan menempatkan diri pada sel target setelah terjadi degranulasi, yaitu pada membran sitoplasma sel kanker untuk membentuk

“lubang” (pore). Adanya lubang pada membran sitoplasma akan menyebabkan instabilitas osmotik dan lisis dari sel target (sel kanker). Selain itu *granzyme*, suatu protease serin eksogen yang juga terdapat dalam granula-granula sel T-sitotoksik dan sel NK, akan masuk ke sitoplasma sel kanker melalui lubang tersebut untuk menginduksi apoptosis. *Granzyme* akan mengaktifkan pro caspase endogen pada sel target..<sup>48-50,51,52</sup>



Gambar 2 Mekanisme granzyme memasuki sel target  
Sumber: Nature Reviews Immunology, 2002

*Granzyme* adalah molekul yang termasuk dalam famili serin protease, yang diekspresikan secara eksklusif oleh sel T-sitotoksik dan sel-NK yang merupakan komponen sistem imun terhadap virus dan transformasi sel pada

organisme tingkat tinggi. Dikenal beberapa jenis *granzyme*, yaitu *granzyme* B, A, C, D, E, F, G, H, dan M. *Granzyme* B merupakan pro-apoptosis yang paling kuat dibandingkan dengan *granzyme-granzyme* lain. *Granzyme* telah diteliti pada manusia dan tikus. Pada tikus dan manusia, *granzyme* B teridentifikasi berjumlah lebih dari 70% dari keseluruhan *granzyme*. *Granzyme* meliputi 90% total massa granula sitolitik, khususnya *secretory lysosome* dari sel T-sitotoksik dan sel NK. Memiliki struktur kimiawi yang dekat dengan *chymotrypsin*, dengan tiga residu kunci pada *catalytic site*-nya yaitu histidin, asam aspartat, dan serin. Pada tikus diidentifikasi 8 macam *granzyme* yaitu *granzyme* A-G, dan M, sedangkan pada manusia diidentifikasi *granzyme* B, A, H, M, dan *granzyme*-3 atau tryptase-2.  
49,51,53

### 2.2.5 Apoptosis

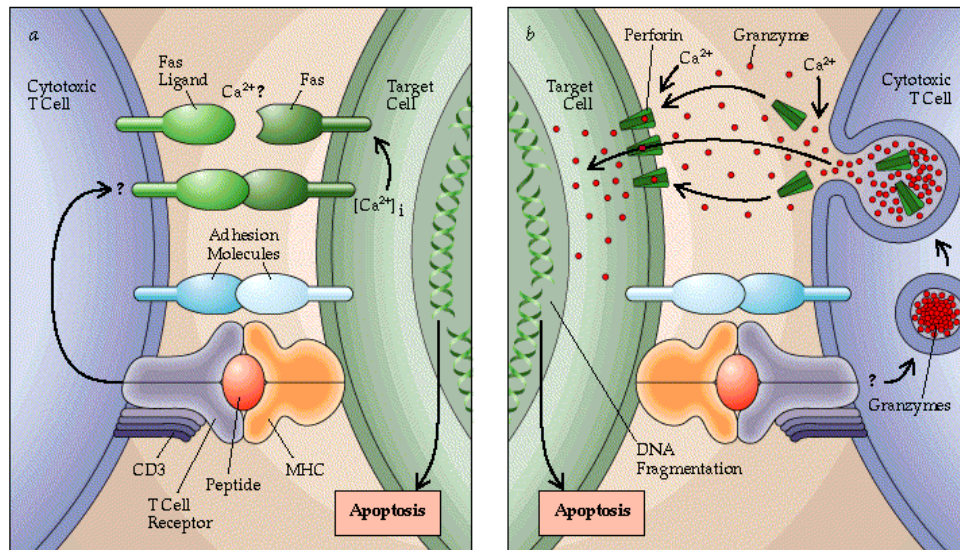
Proses kematian sel yang diinduksi oleh suatu program “bunuh diri” yang diatur dengan ketat di mana sel mengaktifkan enzim yang mampu melakukan degradasi DNA, protein nukleus, dan protein sitoplasmanya sendiri disebut *Apoptosis*. Dalam kondisi fisiologis kematian oleh apoptosis adalah fenomena normal yang berperan mengeliminasi sel-sel yang sudah rusak dan tidak lagi diperlukan dan untuk mempertahankan kestabilan populasi sel dalam jaringan. Sedangkan dalam kondisi patologis apoptosis mengeliminasi sel-sel yang mengalami perubahan secara genetik atau mengalami kerusakan yang tidak bisa diperbaiki tanpa memicu reaksi berat dari host.<sup>42,45,48,52</sup> Radiasi, obat-obatan antikanker sitotoksik, temperatur yang ekstrim, dan hipoksia dapat menyebabkan kerusakan DNA secara langsung atau melalui produksi radikal bebas. Pada situasi

ini dimana mekanisme *repair* tidak mampu mengatasi kerusakan, sel akan memicu mekanisme intrinsik yang menginduksi apoptosis, sehingga eliminasi sel merupakan alternatif yang lebih baik dibanding menghadapi resiko terjadinya mutasi pada DNA yang rusak yang berlanjut pada transformasi maligna. Cedera sel akan menyebabkan apoptosis jika kerusakan yang terjadi ringan, namun menyebabkan nekrosis bila kerusakan yang terjadi besar.<sup>48,52</sup>

Mekanisme utama apoptosis adalah aktivasi enzim *caspase* (cysteiny aspartate-specific proteinases). *Caspase* disintesis dalam bentuk zimogen yang disebut *procaspase*. *Procaspase* proapoptosis dapat dibagi dalam kelompok inisiator yaitu *caspase*-2, -8, -9, -10 dan kelompok efektor yaitu *caspase*-3, -6, -7. Berbagai *caspase* ini akan diaktifkan melalui 2 jalur, yaitu oleh sinyal induksi apoptosis yang terikat pada reseptor permukaan sel (jalur ekstrinsik / jalur *death receptor*) atau oleh sinyal dari dalam sel sendiri (jalur intrinsik / jalur mitokondria). Jalur mitokondria (intrinsik), dengan terpaparnya sel oleh agen yang merusak DNA, sekelompok sensor akan mengaktifkan 2 protein pro-apoptosis yaitu Bax dan Bak, memasuki membran mitokondria, dan membentuk saluran yang akan dilewati oleh sitokrom c dan protein mitokondria yang lain. Sitokrom c yang terlepas membentuk kompleks dengan *adenosine triphosphat* (ATP) dan *apoptotic protease activating factor 1* (*Apaf-1*) di dalam sitoplasma sehingga mengaktifkan *caspase*-9. *Caspase*-9 aktif bersama dengan sitokrom c, ATP dan *Apaf-1* membentuk kompleks apoptosom, yang akan mengaktifkan *caspase*-3, -6, and -7, protein efektor untuk proses degradasi.<sup>52,54,55</sup>

Jalur death receptor (ekstrinsik), sel mengekspresi molekul permukaan yang disebut *death receptor*, yang dapat memicu apoptosis. Bentuk dasar *death receptor* merupakan reseptor *tumor necrosis factor* (TNF) tipe I dan Fas (CD95). Fas-ligand (FasL) adalah suatu protein membran yang terutama terekspresi pada limfosit T aktif. Ketika sel T mengenali target yang mengekspresi Fas, molekul Fas akan mengalami *cross-link* oleh FasL dan akan mengikat protein adapter *Fas-associated death domain protein* (FADD), yang kemudian akan mengikat procaspase-8. Ikatan Fas, FADD, dan pro-caspase 8, disebut *death-inducing signaling complex* (DISC), mengaktifkan caspase-8. Caspase-8 akan mengaktifkan caspase-3, sebagai protein efektor yang menginisiasi degradasi sel. Caspase-8 yang aktif juga akan memicu pelepasan sitokrom dari mitokondria sehingga dimulailah jalur intrinsik.<sup>48,52</sup>

limfosit T sitotoksik dan sel NK, seperti disebutkan di atas memiliki mekanisme alternatif untuk menginduksi apoptosis pada sel target, yaitu dengan melepaskan *perforin* and *granzyme* ke membran sel target. Perforin membentuk suatu saluran di membran sel yang memfasilitasi *granzyme* memasuki sel target dan mengaktifkan *caspase-3*. Dengan cara ini, sel T sitotoksik dan sel NK tanpa mengikutsertakan mitokondria ataupun *death receptor* dapat membunuh sel target dengan menginduksi fase efektor apoptosis secara langsung.



Gambar 3 Jalur lisis sel yang dimediasi oleh limfosit T sitotoksik: jalur Fas/FasL dan jalur perforin/granzym

Sumber : Davidson College Biology Department,2000

*Caspase* aktif memecah berbagai protein sebagai target, yaitu: protein *DNA repair system* [seperti ADP – ribose – polymerase], protein struktural/sitoskeletal (seperti lamin, actin, dan cytokeratin) , dan onkoprotein (terutama protein Ribosom). Sel yang mengalami apoptosis akan melisut, terbentuk *bleb* pada membran sel, terjadi kondensasi nukleus, serta fragmentasi DNA. Membran plasma sel tetap intak, namun sel terdisintegrasi dalam fraksi yang lebih kecil, di mana isi sel yang terfraksinasi akan selalu terbungkus membran sel yang ikut terdegradasi, sehingga tidak ada komponen intraseluler yang terdispersi ke ekstraseluler. Lapisan fosfolipid (*phosphatidylserine*) yang normalnya terdapat pada sisi dalam membran akan bergeser ke sisi luar sehingga akan dikenali oleh makrofag. Makrofag akan melakukan fagositosis terhadap sel mati produk apoptosis tersebut sebelum isi sel bocor ke luar, sehingga reaksi inflamasi tidak terjadi. <sup>48,52,54,55</sup>



### 2.3 *Phaleria macrocarpa*

*Phaleria macrocarpa* adalah tanaman obat yang sudah sangat populer dalam masyarakat Indonesia. Di Indonesia disebut dengan Mahkota Dewa dan termasuk dalam famili *Thymelaceae*. Tanaman ini berasal dari pulau Papua pada daerah tropis dengan curah hujan sekitar 1000-2500 mm/tahun pada ketinggian 10-1200 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini dapat mencapai tinggi 1-6 meter terdiri dari batang, daun, bunga dan buah. Buah *Phaleria macrocarpa* berbentuk lonjong dengan diameter 3 cm berwarna hijau yang berubah menjadi merah bila sudah matang. Buah terdiri dari kulit, daging, cangkang, dan biji. Cangkang berwarna putih dengan mencapai ketebalan 2 mm, Ketebalan kulit buah 0,5-1 mm, daging buah berwarna putih, berair dan berserat.<sup>18</sup>

Aktifitas antimikroba genus *Phaleria* sudah disebutkan dalam kajian pustaka yang telah ada, hal ini berkaitan dengan toksisitas tanaman yang cukup tinggi untuk pertahanan diri. Adanya aktifitas antimikroba ini berhubungan dengan potensi antikanker terhadap sel pada siklus tertentu.<sup>18</sup>

Ekstrak terhadap daging buah dan kulit biji *Phaleria macrocarpa* menunjukkan adanya zat aktif alkaloid, terpenoid, saponin, flavonoid dan polifenol berupa *gallic acid* (*GA* : *3,4,5-trihydroxybenzoic acid*). Phenol telah diketahui memiliki beberapa aktivitas biologik berupa antioksidan, antimutagenik, antikarsinogenik, antiinflamasi dan antimikroba pada manusia. Kandungan phenol paling banyak terdapat pada mesocarp sebesar  $60.5 \pm 0.17$  mg GAE/g.<sup>54</sup> Penelitian terhadap senyawa *gallic acid* dari buah *Phaleria macrocarpa* menunjukkan bahwa senyawa tersebut secara selektif menginduksi kematian sel kanker dengan cara

menghambat proliferasi sel kanker.<sup>56</sup> *Gallic acid* dari *Phaleria macrocarpa* menginduksi apoptosis sel target melalui fragmentasi DNA, aktivasi caspase, dan regulasi Bcl-2 dan Bax pada RNA.<sup>11</sup> Pada manusia Dosis *Phaleria macrocarpa* yaitu 5 gram, dengan pemberian sehari sebanyak satu kali. Jika buah segar dimakan langsung akan menyebabkan mabuk, kehilangan sensasi mulut, kaku, pembengkakan, atau pingsan.<sup>18</sup>

Pengujian terhadap toksisitas ekstrak tanaman dilakukan dengan melihat tingkat mortalitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya toksisitas sangat tinggi, dengan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva udang (LC50) berkisar antara 0,1615 – 11,8351 µg/ml (semakin kecil nilai LC50, semakin toksik tanaman tersebut dan semakin berpotensi untuk memiliki aktifitas biologi / efek farmakologi), dengan batas aktifitas biologi tanaman adalah  $LC50 < 1000 \mu\text{g/ml}$ .<sup>13,18</sup>

Senyawa polyphenol dalam Tanaman obat dilaporkan mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivasi NF-κB, suatu *transcription factor* yang berperan penting dalam regulasi molekul pembentukan sitokin. Penelitian Alvarez dkk. Menyebutkan bahwa diet polyphenols memiliki efek protektif terhadap fungsi sel imunitas, antara lain meningkatkan kemotaksis makrofag, fagositosis, fungsi sel NK, limfoproliferasi dan IL-2.<sup>60</sup> Selain itu Polyphenol juga mempunyai efek menginduksi terjadinya apoptosis melalui TNF-α, dimana apoptosis sel akan dimulai dari *Fas / TNF-RI receptor*, TNF-α ini mempunyai peran penting dalam apoptosis sel.<sup>13,59,60</sup> Pada Suplementasi *Phaleria macrocarpa* dengan Adriamycin Cyclophosphamid (AC) dilaporkan memiliki efek

sinergis dalam mengurangi pertumbuhan sel tumor payudara dengan menginduksi apoptosis, selain juga memiliki efek protektif terhadap toksisitas akibat pemberian AC.<sup>12</sup>

Penelitian pada pemberian secara kombinasi Adriamycin, cyclophosphamide dan ekstrak *Phaleria macrocarpa* 0,0715 mg /hari dengan pelarut ethanol terhadap ekspresi VEGF tumor, menyebutkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok yang diberi ekstrak dan tidak. Menyebabkan peningkatan SGOT dan SGPT yang bermakna, serta tidak ditemukan adanya toksisitas/kerusakan organ vital seperti ginjal, hepar, lien, dan otot jantung, serta lekopenia.<sup>61</sup>

#### **2.4 5-Fluorouracil (5-FU) - Leucovorin**

Penderita yang datang ke dokter yang terdiagnosis kanker kolon biasanya kurang lebih 30% sudah metastasis, dan 25-30% lainnya kemudian berlanjut menjadi penyakit metastasis, sehingga modalitas pengobatan seperti kemoterapi dibutuhkan baik secara tersendiri maupun bersifat *adjuvant* setelah pembedahan.<sup>59</sup> Terdapat peningkatan *5-years survival* pada pasien dengan kanker kolon stadium III yang hanya dilakukan pembedahan sebesar kurang dari 50% menjadi lebih dari 70% apabila dilanjutkan dengan kemoterapi *adjuvant* 5FU kombinasi dengan oxaliplatin. namun kombinasi kedua obat tersebut lebih toksik dan memberi efek samping yang lebih berat daripada pemberian 5FU saja.<sup>62,63</sup>

5-FU adalah antimetabolit analog u *fluoropyrimidine* yang bekerja pada siklus sel spesifik yaitu pada fase Sintesis (S). Setelah teraktivasi akan berubah menjadi bentuk metabolit sitotoksik yaitu FdUMP yang menghambat target enzim

*Thymidylate synthase*. Hambatan terhadap *Thymidylate synthase* menghasilkan akumulasi dUMP yang gagal membentuk dUTP di dalam DNA dengan hasil akhir penghambatan sintesis dan fungsi DNA. Pemberian secara intravena, terdistribusi secara luas ke jaringan dengan konsentrasi tertinggi pada mukosa gastrointestinal, sumsum tulang, dan hepar. Penetrasi kemudian terjadi penumpukan ke rongga ketiga seperti pada ascites dan efusi pleura. 5FU dapat melewati sawar darah otak dan berdistribusi ke LCS dan jaringan otak, yang kemudian terjadi proses metabolisme enzimatik intraseluler menjadi metabolit aktif. Lebih dari 90% metabolit diekskresikan melalui ginjal dan paru.

Toksisitas 5FU berupa kardiotosik, myelosupresi dimana neutropenia dan trombositopenia lebih sering terjadi daripada anemia, selain itu mukositis dan diare, gangguan indra pengecap, *Hand-foot syndrome* yang ditandai dengan kesemutan, nyeri, eritema, bengkak, hiperpigmentasi, gatal pada tangan dan kaki. Sifat kardiotosiknya terjadi secara langsung pada endotel vaskuler, yaitu sintesis nitrit oxide (NO) yang menyebabkan mengawali terjadinya spasme koroner melalui protein kinase C.<sup>64,65</sup>

5-FU Sampai saat ini merupakan terapi lini pertama dan belum ada agen tunggal lain yang lebih efektif dibanding agen ini. Leucovorin merupakan folat tereduksi yang dapat meningkatkan aktivitas antitumor dan menurunkan toksisitas 5FU, menstabilkan kompleks *Thymidylate synthase*-FdUMP-folat menghasilkan inhibisi maksimal *Thymidylate synthase*. Modulasi leucovorin dengan 5-fu meningkatkan angka respon tetapi tidak dapat meningkatkan *survival*.<sup>66</sup>

Menurut NCCN *Guidelines* 2013 pasien dengan kanker kolon stadium II resiko tinggi mulai dapat diberikan kemoterapi *adjuvant* 5FU-Leucovorin. QUASAR *Trial* mengindikasikan keuntungan *survival* yang bermakna pada pasien stadium II yang dilanjutkan dengan kemoterapi 5FU-Leucovorin dengan angka resiko rekurensi relatif dalam 2 tahun sebesar 0,71. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada angka *DFS* antara pemberian FOLFOX dibanding pemberian 5FU-Leucovorin selama *follow up* 6 tahun ( $p=0.258$ ).<sup>6</sup>

Dari penelitian pemberian kemoterapi 5FU-leucovorin dengan atau tanpa oxaliplatin pada penderita kanker kolon stadium lanjut didapatkan hasil regimen 5FU-leucovorin dengan oxaliplatin memiliki angka *progression-free survival* lebih lama secara signifikan ( $p=0,0003$ ) dan memiliki angka respon yang lebih baik ( $p=0,001$ ). Akan tetapi tidak bermakna dalam hal *Overall Survival* ( $p=0,12$ ). Penambahan oxaliplatin memiliki frekuensi toksisitas yang lebih tinggi berupa neutropenia, diare, toksisitas neurosensori, akan tetapi toksisitas tersebut tidak menurunkan *Quality of Life*.<sup>66</sup>

## **2.5 1,2 Dimethylhydrazine**

Disebut juga dengan DMH, merupakan zat kima yang sering digunakan dalam penelitian eksperimental sebagai bahan karsinogenik untuk menginduksi kanker. Zat ini memiliki struktur kimia  $C_2H_8N_2 \cdot 2HCl$ . Dalam keadaan stabil, secara fisik berbentuk bubuk putih higroskopik. Sebelum pemakaian dilarutkan dalam air, etanol, *diethyl ether*, atau *dimethyl formamide*. Zat ini memiliki titik didih 81 °C, titik lebur -9°C, dan bersifat mudah terbakar. DMH telah lama digunakan sebagai bahan karsinogen, melalui pemberian oral, subkutan, atau

intramuskular, dan dapat menghasilkan berbagai macam tumor jaringan terutama tumor kolon, tumor liver, dan tumor vascular pada mencit, tikus, kelinci, atau monyet.<sup>67</sup>

Memiliki kemampuan menerima atau mendonor electron bebas selama reaksi intrasel sehingga mampu mengkatalis pembentukan radikal bebas. Radikal bebas dapat menimbulkan jejas pada sel dengan cara timbulnya reaksi peroksidasi lipid membran, fragmentasi DNA, dan ikatan silang protein. Ikatan ganda pada membran lemak tidak jenuh mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif dan terjadi reaksi autokatalitik. Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal. Kerusakan DNA tersebut telah memberikan implikasi pada kematian sel dan perubahan sel menjadi ganas. Radikal bebas juga mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatis.<sup>68</sup>

Pada penelitian yang dilakukan terhadap tikus Fischer betina sebanyak 15 tikus konvensional dan 24 tikus *germ-free* berusia 7 minggu yang diberi DMH dengan dosis 20 mg/kgBB/minggu secara injeksi subkutan selama 20 minggu. Setelah 15 minggu sejak pemberian terakhir didapatkan perkembangan tumor kolon sebanyak 14 dari 15 tikus konvensional, dan sebanyak 5 dari 24 tikus *germ-free* yang berupa adenokarsinoma. Penelitian lain pada tikus *Sprague dawley* jantan dengan berat 200 gram dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama sebanyak 109 ekor diberikan DMH sebagai dosis tunggal pada hari pertama

perlakuan, kelompok kedua sebanyak 97 ekor diberikan DMH secara injeksi subkutan selama 12 minggu, dan kelompok terakhir sebanyak 100 ekor diberikan DMH secara injeksi subkutan selama 24 minggu. Pada kelompok 1 didapatkan 7 karsinoma kolon yang seluruhnya berada pada area plak limfoid, tetapi tidak didapatkan adenoma. Pada kelompok 2 didapatkan tumor kolon pada 54 ekor tikus (4 adenoma dan 50 adenokarsinoma). Pada kelompok 3 didapatkan tumor kolon pada 65 ekor tikus (8 adenoma dan 57 adenokarsinoma).<sup>67</sup> Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian *1,2-dimethylhydrazine* pada 40 ekor tikus putih strain *Sprague dawley* dengan dosis 65 mg/kgBB/minggu selama 5 minggu, sebanyak 33 ekor berkembang menjadi adenokarsinoma kolon setelah 16 minggu sejak pemberian pertama.<sup>69</sup> Penelitian lain menunjukkan bahwa induksi *1,2-dimethylhydrazine* dosis 20 mg/kgBB/minggu, tumor kolorektal sudah muncul 12 minggu sejak pemberian induksi pertama.<sup>70</sup> Pada penelitian ini, sebanyak 20 ekor tikus putih strain *Sprague dawley* dilakukan proses adaptasi selama 1 minggu, kemudian selama 15 minggu diinduksi oleh *1,2-dimethylhydrazine* dosis 30 mg/kgBB/minggu injeksi subkutan.